

22/1

PCT/JP 99/07013

14.12.99

日本国特許庁

JP 99/7013

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

09/857943

RECEIVED 04 FEB 2000

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1998年12月15日

出願番号

Application Number:

平成10年特許願第356497号

出願人

Applicant(s):

武田薬品工業株式会社

PRIORITY

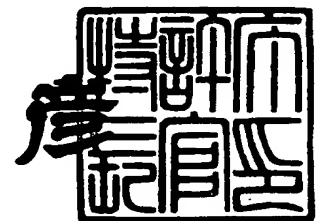
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 1月21日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近藤隆彦



出証番号 出証特平11-3094688

【書類名】 特許願

【整理番号】 A98189

【提出日】 平成10年12月15日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A61K 9/52

A61K 38/02

A61K 47/46

【発明の名称】 ポリマーの製造方法

【請求項の数】 11

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府豊中市北緑丘2丁目1番12-703号

【氏名】 畑 善夫

【発明者】

【住所又は居所】 兵庫県神戸市東灘区本山南町5丁目4番25-503号

【氏名】 猪狩 康孝

【特許出願人】

【識別番号】 000002934

【氏名又は名称】 武田薬品工業株式会社

【代表者】 武田 國男

【代理人】

【識別番号】 100073955

【弁理士】

【氏名又は名称】 朝日奈 忠夫

【選任した代理人】

【識別番号】 100110456

【弁理士】

【氏名又は名称】 内山 務

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 005142

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9000053

【包括委任状番号】 9721047

【プルーフの要否】 要

【書類名】明細書

【発明の名称】ポリマーの製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体またはカルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体の存在下、環状エステル化合物を重合反応に付し、得られる ω 端に保護されたカルボキシル基を有するポリマーを脱保護反応に付すことを特徴とする ω 端に遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーの製造方法。

【請求項2】脱保護反応の後、酸加水分解反応に付すことを特徴とする請求項1記載の製造方法。

【請求項3】カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体が、カルボキシル基が保護されたグリコール酸、カルボキシル基が保護されたL-乳酸、カルボキシル基が保護されたD-乳酸またはカルボキシル基が保護されたDL-乳酸である請求項1記載の製造方法。

【請求項4】カルボキシル基が保護されたヒドロキシカルボン酸の保護基がtert-ブチル基またはベンジル基である請求項1記載の製造方法。

【請求項5】カルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体がタルトロン酸ジベンジルまたは2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチルである請求項1記載の製造方法。

【請求項6】環状エステル化合物が環状モノエステル化合物または環状ジエステル化合物である請求項1記載の製造方法。

【請求項7】脱保護反応が酸分解反応である請求項1記載の製造方法。

【請求項8】カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体の存在下、環状エステル化合物を重合反応に付し、得られる ω 端に保護されたカルボキシル基を有するポリマーを脱保護反応に付すことを特徴とする ω 端に遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーの製造方法。

【請求項9】生体内分解性ポリマーが約6ヶ月以上にわたり生理活性物質を放出する徐放性製剤に用いられる生体内分解性ポリマーである請求項8記載の方法。

【請求項 10】請求項 1 記載の製造方法によって得られる生体内分解性ポリマー

。 【請求項 11】請求項 10 記載の生体内分解性ポリマーを含有してなる徐放性製剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】

本発明は、新規な生体内分解性ポリマーの製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

EP-A-0839525 号公報には、生理活性ペプチドまたはその塩と生体内分解性ポリマーとからなる徐放性製剤およびその製造法が開示されているが、該公報における生体内分解性ポリマーは公知の開環重合法により製造された生体内分解性ポリマーを自体公知の加水分解方法に付すことにより製造されている。

該開環重合法は乳酸の環状二量体を用い、加熱下、触媒を添加して行う方法が、ジェイ・エイチ・アール・ウッドランド (J.H.R.Woodland) 他、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー (J. Med. Chem)、16,897 (1973) に記載されており、またラクチドとグリコリド等の環状ジエステル化合物からの触媒を用いて行う方法が、Encyclopedic handbook of Biomaterials and Bioengineering Part A: Materials, Volume 2, marcel Dekker, Inc. (1995) に記載されている。

また、WO95/03356 号公報には、クエン酸トリベンジルとともにラクチドを重合させることによる一本のポリラクチドと三本のデキストランがクエン酸を介して結合したブロック共重合体の製造方法が記載されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

上記の公知の開環重合方法によって得られるポリマーは、得られるポリマーの ω 端に遊離のカルボキシル基を有しているとは限らず、徐放性製剤への生理活性物質を高率に取込むことが困難である。また、原料の仕込み段階において、目的

の生体内分解性ポリマーの分子量を調節することが困難である。

従って、徐放性製剤への生理活性物質を高率に取込むことを可能にし、目的の生体内分解性ポリマーの分子量の調節を容易にする生体内分解性ポリマーの製造方法の確立が課題である。

また、約6ヶ月以上の長期にわたって生理活性物質を放出する徐放性製剤に用いられる生体内分解性ポリマーに適した製造方法の確立も課題である。

【0004】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記の問題点を解決するために鋭意研究の結果、カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体またはカルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体の存在下、環状エステル化合物を重合反応に付し、得られる ω 端に保護されたカルボキシル基を有するポリマーを脱保護反応に付すことを特徴とする ω 端に遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーの製造方法を見出し、さらに研究を継続した結果、本発明を完成するに至った。

【0005】

すなわち、本発明は、

(1) カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体またはカルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体の存在下、環状エステル化合物を重合反応に付し、得られる ω 端に保護されたカルボキシル基を有するポリマーを脱保護反応に付すことを特徴とする ω 端に遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーの製造方法、

(2) 脱保護反応の後、酸加水分解反応に付すことを特徴とする上記(1)記載の製造方法、

(3) カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体が、カルボキシル基が保護されたグリコール酸、カルボキシル基が保護されたL-乳酸、カルボキシル基が保護されたD-乳酸またはカルボキシル基が保護されたDL-乳酸である上記(1)記載の製造方法、

(4) カルボキシル基が保護されたヒドロキシカルボン酸の保護基がtert-ブチ

ル基またはベンジル基である上記(1)記載の製造方法、

(5) カルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体がタルトロン酸ジベンジルまたは2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチルである上記(1)記載の製造方法、

(6) 環状エステル化合物が環状モノエステル化合物または環状ジエステル化合物である上記(1)記載の製造方法、

(7) 脱保護反応が酸分解反応である上記(1)記載の製造方法、

(8) カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体の存在下、環状エステル化合物を重合反応に付し、得られる ω 端に保護されたカルボキシル基を有するポリマーを脱保護反応に付すことを特徴とする ω 端に遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーの製造方法、

(9) 生体内分解性ポリマーが約6ヶ月以上にわたり生理活性物質を放出する徐放性製剤に用いられる生体内分解性ポリマーである上記(8)記載の方法、

(10) 上記(1)記載の製造方法によって得られる生体内分解性ポリマー、および

(11) 上記(10)記載の生体内分解性ポリマーを含有してなる徐放性製剤などに関する。

【0006】

本発明で用いられる生理活性物質は、薬理学的に有用なものであれば特に限定を受けないが、非ペプチド化合物でもペプチド化合物でもよい。非ペプチド化合物としては、アゴニスト、アンタゴニスト、酵素阻害作用を有する化合物などがあげられる。また、ペプチド化合物としては、例えば、生理活性ペプチドが好ましく、分子量約300～約40,000、好ましくは約400～約30,000、さらに好ましくは約500～約20,000の生理活性ペプチドなどが好適である。

該生理活性ペプチドとしては、例えば、黄体形成ホルモン放出ホルモン(LH-RH)、インスリン、ソマトスタチン、成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン(GH-RH)、プロラクチン、エリスロポイエチン、副腎皮質ホルモン、メラノサイト刺激ホルモン、甲状腺ホルモン放出ホルモン、甲状腺刺激ホルモン

、黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン、バソプレシン、オキシトシン、カルシトニン、ガストリン、セクレチン、パンクレオザイミン、コレシストキニン、アンジオテンシン、ヒト胎盤ラクトーゲン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、エンケファリン、エンドルフィン、キョウトルフィン、タフトシン、サイモポイエチン、サイモシン、サイモチムリン、胸腺液性因子、血中胸腺因子、腫瘍壊死因子、コロニー誘導因子、モチリン、デイノルフィン、ボンベシン、ニューロテンシン、セルレイン、ブラジキニン、心房性ナトリウム排泄増加因子、神経成長因子、細胞増殖因子、神経栄養因子、エンドセリン拮抗作用を有するペプチド類など、およびその誘導体、さらにはこれらのフラグメントまたはフラグメントの誘導体などが挙げられる。

本発明で用いられる生理活性ペプチドはそれ自身であっても、薬理学的に許容される塩であってもよい。このような塩としては、該生理活性ペプチドがアミノ基等の塩基性基を有する場合、無機酸（例、炭酸、重炭酸、塩酸、硫酸、硝酸、ホウ酸等）、有機酸（例、コハク酸、酢酸、プロピオン酸、トリフルオロ酢酸等）などとの塩が挙げられる。

【0007】

生理活性ペプチドがカルボキシル基等の酸性基を有する場合、無機塩基（例、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属など）や有機塩基（例、トリエチルアミン等の有機アミン類、アルギニン等の塩基性アミノ酸類等）などとの塩が挙げられる。また、生理活性ペプチドは金属錯体化合物（例、銅錯体、亜鉛錯体等）を形成していてもよい。

【0008】

上記した生理活性ペプチドの好ましい例としては、LH-RH誘導体であって、前立腺癌、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、思春期早発症、乳癌等の性ホルモン依存性の疾患および避妊に有効なLH-RH誘導体またはその塩が挙げられる。

LH-RH誘導体またはその塩の具体例としては、例えば、トリートメント
ウィズ GnRH アナログ：コントラバーシス アンド パースペクティブ（
Treatment with GnRH analogs: Controversies and perspectives）〔パルテノ

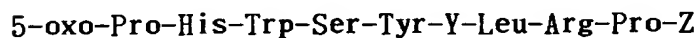
ン バブリッシング グループ (株) (The Parthenon Publishing Group Ltd.)
発行1996年]、特表平3-503165号公報、特開平3-101695号、同
7-97334号および同8-259460号公報などに記載されているペプチ
ド類が挙げられる。

LH-RH誘導体としては、LH-RHアゴニストまたはLH-RHアンタゴ
ニストが挙げられるが、LH-RHアンタゴニストとしては、例えば、一般式〔
I〕



〔式中、XはN(4H₂-furoyl)GlyまたはNacを、AはNMeTyr、Tyr、Aph(Atz)、NMeA
ph(Atz)から選ばれる残基を、BはDLys(Nic)、DCit、DLys(AzaglyNic)、DLys(Az
aglyFur)、DhArg(Et₂)、Daph(Atz)およびDhCi から選ばれる残基を、CはLys(Ni
sp)、ArgまたはhArg(Et₂)をそれぞれ示す〕で表わされる生理活性ペプチドまた
はその塩などが用いられる。

LH-RHアゴニストとしては、例えば、一般式〔II〕



〔式中、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NalおよびDHis(ImBzl)から選ば
れる残基を、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂をそれぞれ示す〕で表わされる生理活性
ペプチドまたはその塩などが用いられる。特に、YがDLeuで、ZがNH-C₂H₅であ
るペプチド(即ち、5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅で表
されるペプチド)が好適である。

これらのペプチドは、前記文献あるいは公報記載の方法あるいはこれに準じる
方法で製造することができる。

【0009】

本明細書中で使用される略号の意味は次のとおりである。

略号	名称
N(4H ₂ -furoyl)Gly:	N-テトラヒドロフロイルグリシン残基
Nac:	N-アセチル基
D2Nal:	D-3-(2-ナフチル)アラニン残基
D4ClPhe:	D-3-(4-クロロ)フェニルアラニン残基

D3Pal: D-3-(3-ピリジル) アラニン残基

NMeTyr: N-メチルチロシン残基

Aph(Atz): N-[5'-(3'-アミノ-1'-H-1', 2', 4'-トリアゾリル)] フェニルアラニン残基

NMeAph(Atz): N-メチル-[5'-(3'-アミノ-1'-H-1', 2', 4'-トリアゾリル)] フェニルアラニン残基

DLys(Nic): D-(ε-N-ニコチノイル) リシン残基

Dcit: D-シトルリン残基

DLys(AzaglyNic): D-(アザグリシルニコチノイル) リシン残基

DLys(AzaglyFur): D-(アザグリシルフラニル) リシン残基

DhArg(Et₂): D-(N,N'-ジエチル)ホモアルギニン残基

Daph(Atz): D-N-[5'-(3'-アミノ-1'-H-1', 2', 4'-トリアゾリル)] フェニルアラニン残基

DhCi: D-ホモシトルリン残基

Lys(Nisp): (ε-N-イソプロピル) リシン残基

hArg(Et₂): (N,N'-ジエチル)ホモアルギニン残基

その他アミノ酸に関し、略号で表示する場合、IUPAC-IUBコミッション・オブ・バイオケミカル・ノーメンクレーチャア(Commission on Biochemical Nomenclature) (ヨーロッパ・ジャーナル・オブ・バイオケミストリー(European Journal of Biochemistry)第138巻、9~37頁(1984年))による略号または該当分野における慣用略号に基づくものとし、また、アミノ酸に関して光学異性体がありうる場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

本発明の徐放性製剤は、生理活性物質以外に、例えば分散剤(Tween 80、HCO-60などの界面活性剤)、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ヒアルロシ酸ナトリウムなどの多糖類、硫酸プロタミン; ポリエチレングリコール400など)、保存剤(例えば、メチルパラベン、プロピルパラベンなど)、等張化剤(例えば、塩化ナトリウム、マンニトール、ソルビトール、ブドウ糖など)、油脂類(例えば、ゴマ油、コーン油など)、リン脂質(例えば、レシチンなど)、賦形剤(例えば、乳糖、コーンスターチ、マンニトール、セ

ルロースなど)、結合剤(例えば、ショ糖、アラビアゴム、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、デキストリンなど)、崩壊剤(例えば、カルボキシメチルセルロースカルシウムなど)、薬物保持剤(例えば、ゼラチン、ヒドロキシナフトエ酸、サリチル酸など)などを含んでいてもよい。

【0010】

本発明に用いられる生体内分解性ポリマーとしては、例えば、ヒドロキシモノカルボン酸(例、グリコール酸、乳酸など)のカルボキシル基が保護された誘導体(例、D-乳酸tert-ブチル、L-乳酸ベンジルなど)、ヒドロキシジカルボン酸(例、タルトロン酸、2-ヒドロキシエチルマロン酸など)のカルボキシル基が保護された誘導体(例、タルトロン酸ジベンジル、2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチルなど)などの1種以上と、環状エステル化合物(例、ラクチド類、ラクトン類など)の1種以上とから合成され、 ω 端に遊離のカルボキシル基を有する重合体、共重合体、またはこれらの混合物(例、 ω 残基がグリコール酸であるポリヒドロキシカルボン酸、 ω 残基がDL-乳酸であるポリヒドロキシカルボン酸、 ω 残基がD-乳酸であるポリヒドロキシカルボン酸、 ω 残基がL-乳酸であるポリヒドロキシカルボン酸、 ω 残基がタルトロン酸であるポリヒドロキシカルボン酸、 ω 残基が2-ヒドロキシエチルマロン酸であるポリヒドロキシカルボン酸など)などが用いられる。

該「ポリヒドロキシカルボン酸」の ω 残基以外の部分は、ポリ α -ヒドロキシカルボン酸が好ましい。

該「ポリ α -ヒドロキシカルボン酸」の最小繰返し単位になる α -ヒドロキシカルボン酸としては、乳酸、グリコール酸などが好ましく、それらのコポリマー(以下、ポリ(ラクチド-co-グリコリド)、ポリ(乳酸-co-グリコール酸)あるいは乳酸-グリコール酸重合体と称することもあり、特に明示しない限り、乳酸、グリコール酸のホモポリマー(重合体、ポリラクチドまたはポリグリコリドとも称する)及びコポリマー(共重合体)を総称する)が汎用される。

該「乳酸-グリコール酸重合体」の組成比(乳酸/グリコール酸)(モル/モル%)は本発明の目的が達成される限り特に限定されないが、約100/0~約30/70のものが用いられる。該組成比の好ましい例としては、約100/0

～約40/60であり、特に約100/0～約45/55のものが汎用される。
 該「ポリ α -ヒドロキシカルボン酸」の最小繰返し単位になる α -ヒドロキシカルボン酸が分子内に光学活性中心を有する場合は、D-体、L-体およびD、L-体の何れでもよいが、D-体/L-体（モル/モル%）が約75/25～約25/75の範囲のものが好ましい。このD-体/L-体（モル/モル%）は、特に約60/40～約30/70の範囲のものが汎用される。

【0011】

上記の生体内分解性ポリマーの重量平均分子量は、通常、約3,000～約500,000、好ましくは約3,000～約200,000、さらに好ましくは約3,000～約100,000が特に好ましい。また、分散度（重量平均分子量/数平均分子量）は、通常約1.2～約4.0が好ましく、さらには約1.5～3.5が特に好ましい。

上記の生体内分解性ポリマーの ω 残基がモノカルボキシル基である場合は、ポリマーの単位質量あたりの末端カルボキシル基量は、通常約40～約90 $\mu\text{mol/g}$ が好ましく、さらには約50～約90 $\mu\text{mol/g}$ が特に好ましい。

上記の生体内分解性ポリマーの ω 残基がジカルボキシル基である場合は、ポリマーの単位質量あたりの末端カルボキシル基量は、通常約30～約800 $\mu\text{mol/g}$ が好ましく、さらには約60～約400 $\mu\text{mol/g}$ が特に好ましい。

上記の重量平均分子量、数平均分子量および分散度とは、重量平均分子量が455645、354000、98900、66437、37200、17100、9830、5870、2500、1303、および504の11種の単分散ポリスチレンを基準物質としてゲルパーミエーションクロマトグラフィー（GPC）で測定したポリスチレン換算の分子量および算出した分散度をいう。測定は、高速GPC装置（東ソー製、HLC-8120GPC）、GPCカラムKF804L \times 2（昭和電工製）を使用し、移動相としてクロロホルムを用いた。

上記の末端カルボキシル基量とはラベル化法による末端基定量方法により求めたものをいう。具体的には、 ω 残基が乳酸であるポリマーである場合には、生体内分解性ポリマーWmgを5NHCl/アセトニトリル（v/v=4/96）混液2mlに溶解し、0.01Mのo-ニトロフェニルヒドラジン（ONPH）溶液（5NHCl/アセト

ニトリル/エタノール=1.02/35/15) 2 ml と 0.15M の EDC 溶液 (ピリジン/エタノール=4v/96v) 2 ml を加えて 40℃ で 30 分反応させた後溶媒を留去する。残滓を水洗 (4 回) した後、アセトニトリル 2 ml で溶解し、0.5mol/l のエタノール性水酸化カリウム溶液 1 ml を加えて 60℃ で 30 分反応させる。反応液を 1.5 N の NaOH で希釈して Y ml とし、1.5 N の NaOH を対象として 544 nm 吸光度 A (/cm) を測定する。一方、DL-乳酸水溶液を基準物質として、その遊離カルボキシル基量 C mol/L を NaOH 滴定で求め、また ONPH ラベル化法で DL-乳酸ヒドラジドとしたときの 544 nm 吸光度を B (/cm) とするとき、

ω 残基が乳酸であるポリマーの遊離カルボキシル基量 [COOH] は以下の数式で求められる。

$$[\text{COOH}] \text{ (mol/g)} = (\text{AYC}) / (\text{WB})$$

【0012】

また、生体内分解性ポリマーをトルエン-アセトン-メタノール混合溶媒に溶解し、フェノールフタレインを指示薬としてこの溶液をアルコール性水酸化カリウム溶液で滴定して末端カルボキシル基量を算出することができる。

生体内分解性ポリマーの分解・消失速度は共重合組成、分子量あるいは遊離カルボキシル基量によって大きく変化するが、一般的には分子量を大きくし、かつ遊離カルボキシル基量を少なくすることによって放出期間を長くすることができる。しかし、遊離カルボキシル基量は生理活性物質の製剤への取り込み率に影響するので一定値以上必要である。この故に、長期間 (例えば、6 カ月以上) 型徐放性製剤用の生体内分解性ポリマーとするには、ω 端がモノカルボキシル基であるポリ DL-乳酸で、上記の重量平均分子量が約 20,000 ~ 約 50,000 で、かつ遊離カルボキシル基量が約 50 ~ 約 90 μmol/g が好ましい。

【0013】

【発明の実施の形態】

以下に本発明の生体内分解性ポリマーの製造方法を詳述する。

(1) まず、上記のカルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体 (例、D-乳酸 tert-ブチル、L-乳酸ベンジルなど) またはカルボキシル基

が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体（例、タルトロン酸ジベンジル、2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチルなど）の存在下、重合触媒を用いて環状エステル化合物を重合反応に付す。

上記の「カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体」または「カルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体」とは、例えば、カルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）がアミド（ $-\text{CONH}_2$ ）化またはエステル（ $-\text{COOR}$ ）化されているヒドロキシカルボン酸誘導体などがあげられるが、なかでも、カルボキシル基（ $-\text{COOH}$ ）がエステル（ $-\text{COOR}$ ）化されているヒドロキシカルボン酸誘導体などが好ましい。

ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、tert-ブチルなどの C_{1-6} アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの C_{3-8} シクロアルキル基、例えば、フェニル、 α -ナフチルなどの C_{6-12} アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル- C_{1-2} アルキル基もしくは α -ナフチルメチルなどの α -ナフチル- C_{1-2} アルキル基などの C_{7-14} アラルキル基などがあげられる。なかでも、tert-ブチル基、ベンジル基などが好ましい。

該「環状エステル化合物」とは、例えば環内に少なくとも1つのエステル結合を有する環状化合物をいう。具体的には、環状モノエステル化合物（ラクトン類）または環状ジエステル化合物（ラクチド類）などがあげられる。

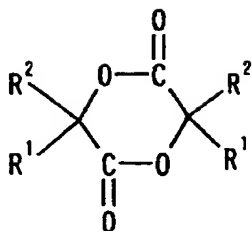
該「環状モノエステル化合物」としては、例えば、4員環ラクトン（ β -プロピオラクトン、 β -ブチロラクトン、 β -イソバレロラクトン、 β -カプロラクトン、 β -イソカプロラクトン、 β -メチル- β -バレロラクトンなど）、5員環ラクトン（ γ -ブチロラクトン、 γ -バレロラクトンなど）、6員環ラクトン（ δ -バレロラクトンなど）、7員環ラクトン（ ϵ -カプロラクトンなど）、p-ジオキサノン、1,5-ジオキセパン-2-オンなどがあげられる。

該「環状ジエステル化合物」としては、

【0014】

例えば、式

【化 1】



(式中、 R^1 および R^2 はそれぞれ同一または異なって、水素原子またはメチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、*t*-ブチルなどの C_{1-6} アルキル基を示す)で表される化合物などがあげられ、なかでも、 R^1 が水素原子で R^2 がメチル基、 R^1 および R^2 がそれぞれ水素原子であるラクチドなどが好ましい。

具体的には、たとえばグリコリド、L-ラクチド、D-ラクチド、DL-ラクチド、*meso*-ラクチド、3-メチル-1,4-ジオキサソ-2,5-ジオン(光学活性体も含む)などがあげられる。

該「重合触媒」としては、例えば有機スズ系触媒(例、オクチル酸スズ、ジラウリル酸ジ-*n*-ブチルスズ、テトラフェニルスズなど)、アルミ系触媒(例、トリエチルアルミニウムなど)、亜鉛系触媒(例、ジエチル亜鉛など)などがあげられる。

反応後の除去の容易さの観点からは、アルミ系触媒、亜鉛系触媒が好ましく、さらには、残存した場合の安全性の観点からは亜鉛系触媒が好ましい。

重合触媒の溶媒としては、ベンゼン、ヘキサン、トルエンなどが用いられ、中でもヘキサン、トルエンなどが好ましい。

「重合方法」は、反応物を融解状態にして行う塊状重合法または反応物を適当な溶媒(例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン、デカリン、ジメチルホルムアミドなど)に溶解して行う溶液重合法を用いればよい。溶媒としては、トルエン、キシレンなどが好ましい。重合温度は特に限定されるものではないが、塊状重合の場合、反応開始時に反応物を融解状態に至らしめる温度以上、通常 $100 \sim 300^\circ\text{C}$ であり、溶液重合の場合、通常室温 $\sim 150^\circ\text{C}$ であり、反応温度が反応溶液の沸点を越えるときは、凝縮器を付けて還流するか、または耐圧容器内で反

応させればよい。重合時間は重合温度、そのほかの反応条件や目的とする重合体の物性などを考慮して適宜定められるが、例えば10分～72時間である。反応後は、必要であれば反応混合物を適当な溶媒（例えば、アセトン、ジクロロメタン、クロロホルムなど）に溶解し、酸（例えば、塩酸、無水酢酸、トリフルオロ酢酸など）で重合を停止させた後、常法によりこれを目的物を溶解しない溶媒（例えば、アルコール、水、エーテル、イソプロピルエーテルなど）中に混合するなどして析出させ、 ω 端に保護されたカルボキシル基を有するポリマーを単離すればよい。

本願の重合方法は、従来のメタノールなどのいわゆるプロトン性連鎖移動剤の代わりにカルボキシル基が保護されたヒドロキシカルボン酸誘導体（例、D-乳酸tert-ブチル、L-乳酸ベンジルなど）またはカルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体（例、タルトロン酸ジベンジル、2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチルなど）などが用いられる。

このようにカルボキシル基が保護されたヒドロキシカルボン酸誘導体（例、D-乳酸tert-ブチル、L-乳酸ベンジルなど）またはカルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体（例、タルトロン酸ジベンジル、2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチルなど）などをプロトン性連鎖移動剤に用いることによって、①分子量を仕込み組成によって制御でき、②重合後に脱保護反応に付すことによって、得られる生体内分解性ポリマーの ω 端にカルボキシル基を遊離させることができる。

【0015】

(2) 次に、上記(1)の重合反応によって得られた ω 端に保護されたカルボキシル基を有するポリマーを脱保護反応に付すことにより目的とする ω 端に遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーを得ることができる。

該保護基は自体公知の方法により脱離できる。このような方法としては、ポリ(ヒドロキシカルボン酸)のエステル結合に影響を与えずに保護基を除去することが可能な方法であればいずれを用いてもよいが、具体的には、例えば還元、酸分解などの方法が挙げられる。

該還元方法としては、例えば触媒（例、パラジウム炭素、パラジウム黒、酸化

白金など)を用いる接触還元、液体アンモニウム中でのナトリウムによる還元、ジチオスレイトールによる還元などが挙げられる。例えば、 ω 端にベンジル基で保護されたカルボキシル基を有するポリマーを接触還元する場合、具体的にはポリマーを酢酸エチル、ジクロロメタン、クロロホルムなどに溶解したものにパラジウム炭素を添加し、激しく攪拌しながら室温で水素を約20分～約4時間通気することで脱保護できる。

酸分解方法としては、例えば無機酸(例、フッ化水素、臭化水素、塩化水素など)あるいは有機酸(例、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸など)またはこれらの混合物などによる酸分解などが挙げられる。また、必要に応じて、酸分解の際、カチオン・スカベンジャー(例、アニソール、フェノール、チオアニソールなど)を適宜添加してもよい。例えば、 ω 端にtert-ブチル基で保護されたカルボキシル基を有するポリマーを酸分解する場合、具体的にはポリマーをジクロロメタン、キシレン、トルエンなどに溶解したものにトリフルオロ酢酸を適当量加えて、あるいはポリマーをトリフルオロ酢酸で溶解して室温で約1時間攪拌することで脱保護できる。

好ましくは、該酸分解法は重合反応直後に行ってもよく、その場合は重合停止反応を兼ねることができる。

さらに必要に応じて、上記の脱保護反応によって得られたポリマーを酸加水分解反応に付すことにより、該ポリマーの重量平均分子量、数平均分子量あるいは末端カルボキシル基量を目的に応じて調節することができる。具体的には、例えば、EP-A-0839525号に記載の方法またはそれに準じた方法によって行うことができる。

前記のようにして得られた生体内分解性ポリマーは、徐放性製剤を製造するための基剤として用いることができる。

本発明の基剤に対する生理活性物質の重量比は、例えばペプチドの場合、約0.001～約50%(w/w)、好ましくは約0.02～約40%(w/w)、より好ましくは約0.1～30%(w/w)であり、非ペプチドの場合、約0.01～80%(w/w)、好ましくは約0.1～50%(w/w)である。

【0016】

(3) 本発明の製造法で得られる生分解性ポリマーを含む徐放性製剤は、例えば水中乾燥法、相分離法、噴霧乾燥法あるいはこれらに準ずる方法などによって製造される。

以下に、徐放性製剤として、例えばマイクロカプセル（マイクロスフェアと称する場合がある）を製造する場合の製造方法について記述する。

以下の製造工程中、必要に応じて、薬物保持剤（例えば、ゼラチン、ヒドロキシナフトエ酸、サリチル酸など）を自体公知の方法により添加してもよい。

【0017】

(I) 水中乾燥法

(i) O/W法

本方法においては、まず生体内分解性ポリマーの有機溶媒溶液を作製する。本発明の徐放性製剤の製造の際に使用する有機溶媒は、沸点が~~1~~ 20℃以下であることが好ましい。

該有機溶媒としては、例えば、~~ハロゲン化炭化水素~~（例、ジクロロメタン、クロロホルム、ジクロロエタジ~~ン~~トリクロロエタ~~ン~~、四塩化炭素等）、エーテル類（例、エチルエーテル、イソプロピルエ~~ー~~テル等）、脂肪酸エステル（例、酢酸エチル、酢酸ブチル等）、芳香族炭化水素（例、ベンゼン、トルエン、キシレン等）、アルコール類（例えば、エタノール、メタノール等）、アセトニトリルなどが用いられる。なかでもハロゲン化炭化水素が好ましく、特にジクロロメタンが好適である。また、これらは適宜の割合で混合して用いてもよい。その場合は、ハロゲン化炭化水素とアルコール類との混液が好ましく、特にジクロロメタンとエタノールとの混液が好適である。

生体内分解性ポリマーの有機溶媒溶液中の濃度は、生体内分解性ポリマーの分子量、有機溶媒の種類によって異なるが、例えば、ジクロロメタ~~ン~~を有機溶媒として用いた場合、一般的には約0.5～約70重量%、より好ましくは約1～約60重量%、特に好ましくは約2～約50重量%から選ばれる。

また、ジクロロメタンとの混有機溶媒としてエタノールを用いた場合の両者の比率は、一般的には約0.01～約50% (v/v)、より好ましくは約0.05～約

40% (v/v)、特に好ましくは約0.1～約30% (v/v)から選ばれる。

このようにして得られた生体内分解性ポリマーの有機溶媒溶液中に、生理活性物質を添加し、溶解あるいは分散させる。この際、生理活性物質の添加量は、生理活性物質：生体内分解性ポリマーの重量比の上限が約1：1まで、好ましくは約1：2までとなるようにする。次いで、得られた生理活性物質またはその塩および生体内分解性ポリマーから成る組成物を含む有機溶媒溶液を水相中に加えて、O（油相）／W（水相）エマルジョンを形成させた後、油相中の溶媒を蒸発させ、マイクロカプセルを調製する。この際の水相体積は、一般的には油相体積の約1倍～約10,000倍、より好ましくは約5倍～約50,000倍、特に好ましくは約10倍～約2,000倍から選ばれる。

【0018】

上記の外水相中には乳化剤を加えてもよい。該乳化剤は、一般に安定なO／Wエマルジョンを形成できるものであればいずれでもよい。具体的には、例えば、アニオン性界面活性剤（オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウムなど）、非イオン性界面活性剤（ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル〔ツイーン(Tween)80、ツイーン(Tween)60、アトラスパウダー社〕、ポリオキシエチレンヒマシ油誘導体〔HCO-60、HCO-50、日光ケミカルズ〕など）、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、カルボキシメチルセルロース、レシチン、ゼラチン、ヒアルロン酸などが用いられる。これらの中の1種類か、いくつかを組み合わせ使用してもよい。使用の際の濃度は、好ましくは約0.01～10重量%の範囲で、さらに好ましくは約0.05～約5重量%の範囲で用いられる。

上記の外水相中には浸透圧調節剤を加えてもよい。該浸透圧調節剤としては、水溶液とした場合に浸透圧を示すものであればよい。

該浸透圧調節剤としては、例えば、多価アルコール類、一価アルコール類、単糖類、二糖類、オリゴ糖およびアミノ酸類またはそれらの誘導体などが挙げられる。

上記の多価アルコール類としては、例えば、グリセリン等の三価アルコール類、アラビトール、キシリトール、アドニトール等の五価アルコール類、マンニト

ール、ソルビトール、ズルシトール等の六価アルコール類などが用いられる。なかでも、六価アルコール類が好ましく、特にマンニトールが好適である。

上記の一価アルコール類としては、例えば、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコールなどが挙げられ、このうちエタノールが好ましい。

上記の単糖類としては、例えば、アラビノース、キシロース、リボース、2-デオキシリボース等の五炭糖類、ブドウ糖、果糖、ガラクトース、マンオース、ソルボース、ラムノース、フコース等の六炭糖類が用いられ、このうち六炭糖類が好ましい。

上記のオリゴ糖としては、例えば、マルトトリオース、ラフィノース糖等の三糖類、スタキオース等の四糖類などが用いられ、このうち三糖類が好ましい。

上記の単糖類、二糖類およびオリゴ糖の誘導体としては、例えば、グルコサミン、ガラクトサミン、グルクロン酸、ガラクトツロン酸などが用いられる。

上記のアミノ酸類としては、L-体のものであればいずれも用いることができ、例えば、グリシン、ロイシン、アルギニンなどが挙げられる。このうちL-アルギニンが好ましい。

これらの浸透圧調節剤は単独で使用しても、混合して使用してもよい。

これらの浸透圧調節剤は、外水相の浸透圧が生理食塩水の浸透圧の約1/50～約5倍、好ましくは約1/25～約3倍となる濃度で用いられる。

有機溶媒を除去する方法としては、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法が用いられる。例えば、プロペラ型攪拌機またはマグネチックスターラーなどで攪拌しながら常圧もしくは徐々に減圧にして有機溶媒を蒸発させる方法、ロータリーエヴァポレーターなどを用いて真空度を調節しながら有機溶媒を蒸発させる方法などが挙げられる。

このようにして得られたマイクロカプセルは遠心分離または濾過して分取した後、マイクロカプセルの表面に付着している遊離の生理活性物質、乳化剤などを蒸留水で数回繰り返し洗浄し、再び蒸留水などに分散して凍結乾燥する。

製造工程中、粒子同士の凝集を防ぐために凝集防止剤を加えてもよい。該凝集防止剤としては、例えば、マンニトール、ラクトース、ブドウ糖、デンプン類（例、コーンスターチ等）などの水溶性多糖、グリシンなどのアミノ酸、フィブリ

ン、コラーゲンなどのタンパク質などが用いられる。なかでも、マンニトールが好適である。

【0019】

また、凍結乾燥後、必要であれば、減圧下マイクロカプセルが同士が融着しない条件内で加温してマイクロカプセル中の水分および有機溶媒の除去を行ってもよい。好ましくは、毎分10～20℃の昇温速度の条件下で示差走査熱量計で求めた生体内分解性ポリマーの中間点ガラス転移温度よりも若干高い温度で加温する。より好ましくは生体内分解性ポリマーの中間点ガラス転移温度からこれより約30℃高い温度範囲内で加温する。とりわけ、生体内分解性ポリマーとして乳酸-グリコール酸重合体を用いる場合には好ましくはその中間点ガラス転移温度以上中間点ガラス転移温度より10℃高い温度範囲、さらに好ましくは、中間点ガラス転移温度以上中間点ガラス転移温度より5℃高い温度範囲で加温する。

加温時間はマイクロカプセルの量などによって異なるものの、一般的にはマイクロカプセル自体が所定の温度に達した後、約12時間～約168時間、好ましくは約24時間～約120時間、特に好ましくは約48時間～約96時間である。

加温方法は、マイクロカプセルの集合が均一に加温できる方法であれば特に限定されない。

該加温乾燥方法としては、例えば、恒温槽、流動槽、移動槽またはキルン中で加温乾燥する方法、マイクロ波で加温乾燥する方法などが用いられる。このなかで恒温槽中で加温乾燥する方法が好ましい。

【0020】

(ii) W/O/W法

まず、生体内分解性ポリマーの有機溶媒溶液を作る。

該有機溶媒としては、例えば、ハロゲン化炭化水素（例、ジクロロメタン、クロロホルム、ジクロロエタン、トリクロロエタン、四塩化炭素等）、エーテル類（例、エチルエーテル、イソプロピルエーテル等）、脂肪酸エステル（例、酢酸エチル、酢酸ブチル等）、芳香族炭化水素（例、ベンゼン、トルエン、キシレン等）、アルコール類（例えば、エタノール、メタノール等）、アセトニトリルなど

が用いられる。なかでも、ハロゲン化炭化水素が好ましく、特にジクロロメタンが好適である。これらは適宜の割合で混合して用いてもよい。その場合は、ハロゲン化炭化水素とアルコール類の混液が好ましく、特にジクロロメタンとエタノールとの混液が好適である。

【0021】

生体内分解性ポリマーの有機溶媒溶液中の濃度は生体内分解性ポリマーの分子量、有機溶媒の種類によって異なるが、例えば、ジクロロメタンを有機溶媒として用いた場合、一般的には約0.5～約70重量%、より好ましくは約1～約60重量%、特に好ましくは約2～約50重量%から選ばれる。

次いで、生体内分解性ポリマーの有機溶媒溶液（油相）に生理活性物質またはその塩の溶液〔該溶媒としては、水、水とアルコール類（例、メタノール、エタノール等）の混液〕を添加する。この混合物をホモジナイザーまたは超音波等の公知の方法で乳化し、W/Oエマルションを形成させる。

次いで、得られた生理活性物質および生体内分解性ポリマーから成るW/Oエマルションを水相中に加え、W（内水相）/O（油相）/W（外水相）エマルションを形成させた後、油相中の溶媒を蒸発させ、マイクロカプセルを調製する。この際の外水相体積は一般的には油相体積の約1倍～約10,000倍、より好ましくは約5倍～約50,000倍、特に好ましくは約10倍～約2,000倍から選ばれる。

上記の外水相中に加えてもよい乳化剤や浸透圧調節剤、およびその後の調製法は前記（I）（i）項に記載と同様である。

【0022】

（II）相分離法

本法によってマイクロカプセルを製造する場合には、前記（I）の水中乾燥法に記載した生理活性物質および生体内分解性ポリマーから成る組成物を含む有機溶媒溶液にコアセルベーション剤を攪拌下徐々に加えてマイクロカプセルを析出、固化させる。該コアセルベーション剤は油相体積の約0.01～1,000倍、好ましくは約0.05～500倍、特に好ましくは約0.1～200倍から選ばれる。

コアセルベーション剤としては、有機溶媒と混和する高分子系、鉱物油系または植物油系の化合物等で生体内分解性ポリマーを溶解しないものであれば特に限定はされない。具体的には、例えば、シリコン油、ゴマ油、大豆油、コーン油、綿実油、ココナッツ油、アマニ油、鉱物油、*n*-ヘキサン、*n*-ヘプタンなどが用いられる。これらは2種類以上混合して使用してもよい。

このようにして得られたマイクロカプセルを分取した後、ヘプタン等で繰り返し洗浄して生理活性物質および生体内分解性ポリマーからなる組成物以外のコアセルベーション剤等を除去し、減圧乾燥する。もしくは、前記(I)(i)の水中乾燥法で記載と同様の方法で洗浄を行った後に凍結乾燥、さらには加温乾燥する。

【0023】

(III) 噴霧乾燥法

本法によってマイクロカプセルを製造する場合には、前記(I)の水中乾燥法に記載した生理活性物質および生体内分解性ポリマーの2者から成る組成物を含有する有機溶媒溶液または分散液をノズルを用いてスプレードライヤー（噴霧乾燥器）の乾燥室内に噴霧し、極めて短時間内に微粒化液滴内の有機溶媒を揮発させ、マイクロカプセルを調製する。該ノズルとしては、例えば、二流体ノズル型、圧力ノズル型、回転ディスク型等がある。この後、必要であれば、前記(I)の水中乾燥法で記載と同様の方法で洗浄を行った後に凍結乾燥、さらには加温乾燥してもよい。

上述のマイクロカプセル以外の剤形としてマイクロカプセルの製造法(I)の水中乾燥法に記載した生理活性物質および生体内分解性ポリマーから成る組成物を含む有機溶媒溶液または分散液を、例えば、ロータリーエヴァポレーターなどを用いて真空度を調節しながら有機溶媒および水を蒸発させて乾固した後、ジェットミルなどで粉碎して微粒子（マイクロパーティクル）としてもよい。

さらには、粉碎した微粒子をマイクロカプセルの製造法(I)の水中乾燥法で記載と同様の方法で洗浄を行った後に凍結乾燥、さらには加温乾燥してもよい。

ここで得られるマイクロカプセルまたは微粒子は、使用する生体内分解性ポリマーまたは乳酸-グリコール酸重合体の分解速度に対応した薬物放出が達成でき

る。

【0024】

本発明の製造法によって得られる徐放性組成物は、そのまままたはこれらを原料物質として種々の剤形に製剤化し、筋肉内、皮下、臓器などへの注射剤または埋め込み剤、鼻腔、直腸、子宮などへの経粘膜剤、経口剤（例、カプセル剤（例、硬カプセル剤、軟カプセル剤等）、顆粒剤、散剤等の固形製剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤等の液剤等）などとして投与することができる。

例えば、本発明の製造法によって得られる徐放性組成物を注射剤とするには、これらを分散剤（例、ツイーン（Tween）80、HCO-60等の界面活性剤、ヒアルロン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム等の多糖類など）、保存剤（例、メチルパラベン、プロピルパラベンなど）、等張化剤（例、塩化ナトリウム、マンニトール、ソルビトール、ブドウ糖、プロリンなど）等と共に水性懸濁剤とするか、ゴマ油、コーン油などの植物油と共に分散して油性懸濁剤として実際に使用できる徐放性注射剤とすることができる。

本発明の製造法によって得られる徐放性組成物の粒子径は、懸濁注射剤として使用する場合には、その分散度、通針性を満足する範囲であればよく、例えば、平均粒子径として約0.1～300 μ m、好ましくは約0.5～150 μ mの範囲、さらに好ましくは約1から100 μ mの範囲である。

本発明の製造法によって得られる徐放性組成物を無菌製剤にするには、製造全工程を無菌にする方法、ガンマ線で滅菌する方法、防腐剤を添加する方法等が挙げられるが、特に限定されない。

【0025】

本発明の徐放性組成物は、低毒性であるので、哺乳動物（例、ヒト、牛、豚、犬、ネコ、マウス、ラット、ウサギ等）に対して安全な医薬などとして用いることができる。

本発明の製造法によって得られる徐放性組成物の投与量は、主薬である生理活性物質の種類と含量、剤形、生理活性物質放出の持続時間、対象疾病、対象動物などによって種々異なるが、生理活性物質の有効量であればよい。主薬である生理活性物質の1回当たりの投与量としては、例えば、徐放性製剤が6カ月製剤で

ある場合、好ましくは、成人1人当たり約0.01mg~10mg/kg体重の範囲、さらに好ましくは約0.05mg~5mg/kg体重の範囲から適宜選ぶことができる。

1回当たりの徐放性組成物の投与量は、成人1人当たり好ましくは、約0.05mg~50mg/kg体重の範囲、さらに好ましくは約0.1mg~30mg/kg体重の範囲から適宜選ぶことができる。

投与回数は、数週間に1回、1か月に1回、または数か月（例、3ヵ月、4ヵ月、6ヵ月など）に1回等、主薬である生理活性物質の種類と含量、剤形、生理活性物質放出の持続時間、対象疾病、対象動物などによって適宜選ぶことができる。

【0026】

【実施例】

以下に実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、これらは本発明を限定するものではない。

実施例1 [D-乳酸tert-ブチル/ジエチル亜鉛/DL-ラクチド]によるPLAの合成

−78℃に冷却したD-乳酸tert-ブチル 40.6mgに、窒素雰囲気下でジエチル亜鉛(1/2モル当量)のトルエン溶液を加え、その後室温で30分反応させた。これを、DL-ラクチド 4.14gを溶融したものに窒素雰囲気下で添加混合して130℃で2時間重合させた。

重合反応の停止のため、反応物をジクロロメタンに溶解し、0.1N HCl水溶液と混合して20分攪拌した後、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥(40℃、2日)して ω 残基がD-乳酸tert-ブチルであるポリ(DL-乳酸)を得た。¹H-NMR分析の結果、乳酸残基のメチン水素(5.1-5.3ppm)、メチル基水素(1.5-1.6ppm)およびtert-ブチル基水素(1.46ppm)を確認した。また、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ、ほとんど呈色しなかった。これらの事実から、ポリマーの ω 残基は、カルボキシル基がtert-ブチル基で保護された乳酸であることを示している。

次いで脱保護のために、このポリマーをトリフルオロ酢酸に溶解し、室温で一

夜攪拌した。その後、冷イソプロピルエーテルに混合してポリマーを析出回収、次いでジクロロメタン／冷イソプロピルエーテルで再沈殿精製を2回行った。精製した沈殿をジクロロメタンで溶解し、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥(40℃、2日)して ω 残基がD-乳酸であるポリ(DL-乳酸) 3.84 gを得た。 $^1\text{H-NMR}$ 分析の結果、tert-ブチル基のシグナルは完全に消失しており、このことから脱保護を確認した。また原子吸光測定の結果、亜鉛の残存は検出限界(10ppm)以下であり、この方法で重合触媒が効果的に除去出来ていることがわかった。さらに、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ紫色の強い呈色を示し、脱保護によるカルボキシル基の再生を確認した。GPCの結果、重量平均分子量は43.0 kDa、数平均分子量は15.9 kDaであった。

実施例2 [D-乳酸tert-ブチル／ジエチル亜鉛／DL-ラクチド]によるPLAの合成

。 -78℃に冷却したD-乳酸tert-ブチルに、窒素雰囲気下でジエチル亜鉛(1/2モル当量)のトルエン溶液を加え、その後室温で10～30分反応させた。これを、溶融したDL-ラクチドに窒素雰囲気下で添加混合して130℃で1～5時間重合させた。

。 重合反応の停止および脱保護のため、反応物をトリフルオロ酢酸に溶解し、室温で1時間攪拌した。その後、冷イソプロピルエーテルに混合してポリマーを析出回収、次いでジクロロメタン／冷イソプロピルエーテルで再沈殿精製を2回行った。精製した沈殿をジクロロメタンで溶解し、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥(40℃、2日)して ω 残基がD-乳酸であるポリ(DL-乳酸)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ 分析の結果、tert-ブチル基のシグナルは完全に消失しており、このことから脱保護を確認した。また原子吸光測定の結果、亜鉛の残存は検出限界(10ppm)以下であり、この方法で重合触媒が効果的に除去出来ていることがわかった。さらに、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ紫色の強い呈色を示し、脱保護によるカルボキシル基の再生を確認した。表1にDL-ラクチドとD-乳酸tert-ブチルの仕込み組成、モル比および脱保護後のポリマーの重量平均分子量とカルボキシル基量をしめす。表から明ら

かなように、DL-ラクチドとD-乳酸tert-ブチルの仕込みモル比によってポリマーの分子量を制御することが出来る。

【表 1】

Run No.	DL-ラクチド (M)	D-乳酸 tert-ブチル (I)	M/I	Mw	[COOH]
	(g)	(mg)	(mol/mol)	(kDa)	(μ mol/g)
PA1	7.89	167.1	47.9	19.8	97.0
PA2	22.38	219.4	103.5	34.8	54.5
PA3	8.09	79.3	103.5	35.8	49.6
PA4	10.16	94.0	109.7	37.9	52.7
PA5	10.83	93.6	117.3	40.1	47.4
PA6	11.11	90.7	124.3	40.0	47.0
PA7	10.92	84.4	131.2	43.3	46.0
PA8	11.49	84.3	138.2	43.5	44.4
PA9	12.10	84.6	145.1	44.4	42.3

【0027】

実施例 3 [L-乳酸ベンジル／ジエチル亜鉛／DL-ラクチド]によるPLAの合成。

−78℃に冷却したL-乳酸ベンジル 181.7mgに窒素雰囲気下でジエチル亜鉛(1/2モル当量)トルエン溶液を加え、その後室温で20分反応させた。これに、蒸留トルエン1mlを加えて希釈した後、DL-ラクチド 15.03gを窒素雰囲気下で加えて130℃、1.5時間重合させた。

重合反応の停止のため、反応物をジクロロメタンに溶解し、0.1N HCl水溶液と混合して20分攪拌した後、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥(40℃、2日)して ω 残基がL-乳酸ベンジルであるポリ(DL-乳酸)を得た。¹H-NMR分析の結果、乳酸残基のメチン水素(5.1-5.3ppm)、メチル基水素(1.5-1.6ppm)およびベンジル基のフェニル水素(7.35ppm)を確認した。また、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ、ほとんど呈色しなかった。これらの事実から、ポリマーの ω 残基は、カルボキシル基がベンジル基で保護された乳酸であることを示している。

次いで脱保護のため、このポリマーの約半量をトリフルオロ酢酸30mlで溶解し

、チオアニソール（L-乳酸ベンジルの3倍当量）を添加、1時間氷冷撹拌した。メタンスルホン酸を加えさらに2時間氷冷撹拌した。そして反応液を冷イソプロピルエーテルに混合してポリマーを析出回収、次いでジクロロメタン／冷イソプロピルエーテルで再沈殿精製を2回行った。精製した沈殿をジクロロメタンで溶解し、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥（40℃、2日）してω残基がL-乳酸であるポリ（DL-乳酸）7.54gを得た。¹H-NMR分析の結果、ベンジル基のフェニル水素のシグナルは完全に消失しており、このことから脱保護を確認した。また原子吸光測定の結果、亜鉛の残存は検出限界（10ppm）以下であり、この方法で重合触媒が効果的に除去出来ることがわかった。さらに、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ紫色の強い呈色を示し、脱保護によるカルボキシル基の再生を確認した。

実施例4 [L-乳酸ベンジル／ジエチル亜鉛／DL-ラクチド]によるPLAの合成。

−78℃に冷却したL-乳酸ベンジルに窒素雰囲気下でジエチル亜鉛（1/2モル当量）溶液（ヘキサシまたはトルエン）を加え、その後室温で20分反応させた。これを、溶融したDL-ラクチドに窒素雰囲気下で添加混合して130℃で1.5時間重合させた。

次いで重合反応の停止および脱保護のため、反応物をトリフルオロ酢酸30mlで溶解し、チオアニソール（L-乳酸ベンジルの3倍当量）を添加、1時間氷冷撹拌した。メタンスルホン酸を加えさらに2時間氷冷撹拌した。QA2については、このまま次の工程に用いたが、QA1については、この後更に室温で1時間撹拌した。そして反応液を冷イソプロピルエーテルに混合してポリマーを析出回収、次いでジクロロメタン／冷イソプロピルエーテルで再沈殿精製を2回行った。精製した沈殿をジクロロメタンで溶解し、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥（40℃、2日）してω残基がL-乳酸であるポリ（DL-乳酸）を得た。¹H-NMR分析の結果、ベンジル基のフェニル水素のシグナルは完全に消失しており、このことから脱保護を確認した。また原子吸光測定の結果、亜鉛の残存は検出限界（10ppm）以下であり、この方法で重合触媒が効果的に除去出来ることがわかった。さらに、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ紫色の強い呈色を示し、脱保護によるカルボキシル基の

再生を確認した。合成結果を表2に示す。

【表2】

Run No.	DL-ラクチド(M) (g)	L-乳酸ベンジル(I) (mg)	M/I (mol/mol)	Mw (kDa)	[COOH] (μ mol/g)
QA1	12.13	146.6	82.8	36.0	70.4
QA2	10.55	127.4	103.5	44.6	46.1

【0028】

実施例5 [タルトロン酸ジベンジル/ジエチル亜鉛/DL-ラクチド]によるタルトロン酸末端PLAの合成。

-78℃に冷却したタルトロン酸ジベンジル 592.8mgに窒素雰囲気下でジエチル亜鉛(1/2モル当量)のヘキサン溶液を加え、その後室温で20分反応させた。これに、DL-ラクチド 9.63gを窒素雰囲気下で添加混合して130℃、3時間重合させた。

重合反応の停止のため、反応物をジクロロメタンに溶解し、0.1N HCl水溶液と混合して20分攪拌した後、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥(40℃、2日)して ω 残基がタルトロン酸ジベンジルであるポリ(DL-乳酸)を得た。¹H-NMR分析の結果、乳酸残基のメチン水素(5.1-5.3ppm)、メチル基水素(1.5-1.6ppm)およびベンジル基のフェニル水素(7.35ppm)を確認した。また、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ、ほとんど呈色しなかった。これらの事実から、ポリマーの ω 残基は、カルボキシル基がベンジル基で保護されたタルトロン酸であることを示している。

次いで脱保護のため、このポリマーの内 215mgをトリフルオロ酢酸2mlで溶解し、チオアニソール200 μ lを添加、-5℃で1時間攪拌した。メタンスルホン酸 2mlを加えさらに20分氷冷攪拌、次いで室温で25分攪拌した。そして反応液を冷イソプロピルエーテルに混合してポリマーを析出回収、次いでジクロロメタン/冷イソプロピルエーテルで再沈殿精製を2回行った。精製した沈殿をジクロロメタンで溶解し、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥(40℃、2日)して ω 残基がタルトロン酸であるポリ(DL-乳酸)を得た。¹H-NMR分析の結果、ベンジル基のフェニル水素のシ

グナルは完全に消失しており、このことから脱保護を確認した。また原子吸光測定の結果、亜鉛の残存は検出限界 (10ppm) 以下であり、この方法で重合触媒が効果的に除去出来ていることがわかった。さらに、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ紫色の強い呈色を示し、脱保護によるカルボキシル基の再生を確認した。

【0029】

実施例 6 [タルトロン酸ジベンジル/ジエチル亜鉛/DL-ラクチド] によるタルトロン酸末端PLAの合成。

-78℃に冷却したタルトロン酸ジベンジルに窒素雰囲気下でジエチル亜鉛(1/2モル当量)のトルエン溶液を加え、その後室温で20分反応させた。これに、DL-ラクチドを窒素雰囲気下で添加混合して130℃、1～5時間重合させた。

次いで重合反応の停止および脱保護のため、反応物をトリフルオロ酢酸30mlで溶解し、チオアニソール(L-乳酸ベンジルの3倍当量)を添加、-5℃で1時間攪拌した。メタンスルホン酸を加えさらに2時間氷冷攪拌した。そして反応液を冷イソプロピルエーテルに混合してポリマーを析出回収、次いでジクロロメタン/冷イソプロピルエーテルで再沈殿精製を2回行った。精製した沈殿をジクロロメタンで溶解し、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥(40℃、2日)して ω 残基がタルトロン酸であるポリ(DL-乳酸)を得た。¹H-NMR分析の結果、ベンジル基のフェニル水素のシグナルは完全に消失しており、このことから脱保護を確認した。また原子吸光測定の結果、亜鉛の残存は検出限界 (10ppm) 以下であり、この方法で重合触媒が効果的に除去出来ていることがわかった。さらに、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ紫色の強い呈色を示し、脱保護によるカルボキシル基の再生を確認した。また、タルトロン酸を基準物質に用いて、ONPHラベル化法でタルトロン酸ヒドラジドとしたときの吸光度との比較から、ポリマーの ω 残基であるタルトロン酸量をジカルボキシル基量として求めた。合成結果を表3に示す。

【表 3】

Run No.	DL-ラクチド/タルトロン酸ジベンジル (mol/mol)	Mw (kDa)	[ジカルボキシル基] (μ mol/g)
RA 1	6.1	3.6	378.9
RA 2	9.6	5.6	277.9
RA 3	20.0	9.6	155.3
RA 4	33.9	20.2	94.3
RA 5	68.5	25.9	66.2
RA 6	103.2	34.2	44.5

【0030】

実施例 7 [2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチル/ジエチル亜鉛/DL-ラクチド] による2-ヒドロキシエチルマロン酸末端PLAの合成。

−78℃に冷却した2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチル 482.4 mg に、窒素雰囲気下でジエチル亜鉛(1/2モル当量)のトルエン溶液を加え、その後室温で30分反応させた。これを、DL-ラクチド 3.43 g を溶融したものに窒素雰囲気下で添加混合して130℃で2時間重合させた。

重合反応の停止のため、反応物をジクロロメタンに溶解し、0.1N HCl 水溶液と混合して20分攪拌した後、中性になるまで水洗を繰り返した。次いで、ジクロロメタン溶液を濃縮、真空乾燥(40℃、2日)して ω 残基が2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチルであるポリ(DL-乳酸)を得た。¹H-NMR分析の結果、乳酸残基のメチン水素(5.1-5.3ppm)、メチル基水素(1.5-1.6ppm)およびtert-ブチル基水素(1.46ppm)を確認した。また、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ、ほとんど呈色しなかった。これらの事実から、ポリマーの ω 残基は、カルボキシル基がtert-ブチル基で保護された2-ヒドロキシエチルマロン酸であることを示している。

次いで実施例 1 と同様に脱保護反応を行い、 ω 残基が2-ヒドロキシエチルマロン酸であるポリ(DL-乳酸) 2.98 g を得た。¹H-NMR分析の結果、tert-ブチル基のシグナルは完全に消失しており、このことから脱保護を確認した。また原子吸光測定の結果、亜鉛の残存は検出限界(10ppm)以下であり、この方法で重合触

媒が効果的に除去出来ていることがわかった。さらに、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ紫色の強い呈色を示し、脱保護によるカルボキシル基の再生を確認した。

実施例 8 [2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチル/ジエチル亜鉛/DL-ラクチド] による2-ヒドロキシエチルマロン酸末端PLAの合成。

D-乳酸tert-ブチルに換えて2-ヒドロキシエチルマロン酸ジtert-ブチルを用いて実施例 2 と同様に合成し、 ω 残基が2-ヒドロキシエチルマロン酸であるポリ(D-乳酸)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ 分析の結果、tert-ブチル基のシグナルは完全に消失しており、このことから脱保護を確認した。また原子吸光測定の結果、亜鉛の残存は検出限界(10ppm)以下であり、この方法で重合触媒が効果的に除去出来ていることがわかった。さらに、このポリマーに末端基ラベル化定量法を適用したところ紫色の強い呈色を示し、脱保護によるカルボキシル基の再生を確認した。また、タルトロン酸を基準物質に用いて、ONPHラベル化法でタルトロン酸ヒドラジドとしたときの吸光度との比較から、ポリマーの ω 残基である2-ヒドロキシエチルマロン酸量をジカルボキシル基量として求めた。

合成結果を表 4 に示す。

【表 4】

Run No.	DL-ラクチド/2-ヒドロキシエチルマロン酸ジ tert-ブチル (mol/mol)	Mw (kDa)	[ジカルボキシル基] (μ mol/g)
SA1	54.5	16.9	108.1

【0031】

実施例 9 酸加水分解

実施例 2 で合成したポリマー PA 5 と PA 6 との等量混合物 800 mg をジクロロメタン 2 ml に溶解し、1%乳酸水溶液 15 ml と混合、65℃で攪拌した。所定時間にポリマーを採取し、水洗、乾燥後、GPC測定および末端基ラベル化定量法を行った。結果を表 5 に示す。表 5 から明らかなように、反応時間にほぼ比例してカルボキシル基量が増加しており、酸加水分解反応によってポリマーの特性を制御できる。

【表 5】

反応時間 (h r)	Mw (kDa)	[COOH] (μ mol/g)
0	40.6	46.3
2.5	38.0	50.7
5	35.5	56.1
7.5	32.9	61.0
10	30.1	67.6
24	18.7	118.5
30	15.2	145.4

【0032】

実施例 10

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Dleu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅ (以下、ペプチドAと略記する) の酢酸塩0.6g/0.6ml水溶液と、実施例6で合成した ω 残基がタルトロン酸である(DL-乳酸) (Run No.RA4) 2.4g/7mlジクロロメタン溶液とを混合してホモジナイザーで乳化し、W/Oエマルションを形成した。次いでこれを、18℃に予冷した0.1% (w/w)ポリビニルアルコール (EG-40、日本合成化学製) 水溶液800ml中に注入し、タービン型ホモミキサーを用い、7,000rpmで攪拌してW/O/Wエマルションとした。このW/O/Wエマルションを室温で3時間攪拌してジクロロメタンを揮散させ、油相を固化させた後、75 μ mの目開きの篩を用いて篩過し、次いで遠心分離機 (05PR-22、日立製作所) を用いて2,000rpm、5分間の条件でマイクロカプセルを沈降させて捕集した。これを再び蒸留水に分散後、さらに遠心分離を行い、遊離薬物等を洗浄した。捕集されたマイクロカプセルは少量の蒸留水を加えて再分散後、凍結乾燥して粉末として得られた。マイクロカプセルの質量回収率は38%、マイクロカプセル中のペプチドA含量は18.9%であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、94.6%であった。

【0033】

実施例 11

実施例10中のW/Oエマルションの組成を、ペプチドAの酢酸塩0.8g/0.8ml水

溶液と、実施例 6 で合成した ω 残基がタルトロン酸である (DL-乳酸) (Run No. RA 6) 3.2g/13ml ジクロロメタン溶液に変更した以外は実施例 10 と同様にしてマイクロカプセルを得た。マイクロカプセルの質量回収率は 69%、マイクロカプセル中のペプチド A 含量は 19.1% であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、95.3% であった。

【0034】

実施例 12

実施例 10 中の W/O エマルションの組成を、ペプチド A の酢酸塩 0.6g/0.6ml 水溶液と、実施例 8 で合成した ω 残基が 2-ヒドロキシエチルマロン酸である (DL-乳酸) (Run No. SA1) 2.4g/4ml ジクロロメタン溶液に変更した以外は実施例 10 と同様にしてマイクロカプセルを得た。マイクロカプセル中のペプチド A 含量は 16.3% であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、81.3% であった。

【0035】

比較例 1

実施例 10 中の W/O エマルションの組成を、ペプチド A の酢酸塩 1g/1ml 水溶液と、ポリ (DL-乳酸) (PLA25000、Mw 25.9K、 $[\text{COOH}] = 98.2 \mu\text{mole/g}$ 、和光純薬工業製) 4g/5ml ジクロロメタン溶液に変更した以外は実施例 10 と同様にしてマイクロカプセルを得た。マイクロカプセルの質量回収率は 49%、マイクロカプセル中のペプチド A 含量は 11.4% であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、57.1% であった。

【0036】

実験例 1

実施例 10 および実施例 12 で得られたマイクロカプセル約 50mg を 0.3ml の分散媒 (0.15 mg のカルボキシメチルセルロース, 0.3mg のポリソルベート 80, 15mg のマンニトールを溶解した蒸留水) に分散して 8 週齢雄性 SD ラットの背部皮下に 22G 注射針で投与した。投与 1 日後にラットを屠殺して投与部位に残存するマイクロカプセルを取り出し、この中のペプチド A を定量した結果は、それぞれのマイクロカプセルについて 95.6%、87.1% であった。

実施例 10 から実施例 12 で得られたペプチド A の含量は比較例 1 の場合よりも有意に大きいことから、本発明のポリエステルは生理活性物質を高含量で含有する徐放性製剤の基剤として優れており、また実験例 1 の結果より、それを使用する製剤は投与後初期の薬物放出を非常によく抑える効果のあることが明らかとなった。

【0037】

実施例 13

実施例 10 中の W/O エマルションの組成を、ペプチド A の酢酸塩 0.8g/0.8ml 水溶液と、油相として実施例 4 で合成したポリマー (Run No. QA1) 3.08g、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 0.12g、ジクロロメタン 5ml およびエタノール 0.3ml からなる溶液に変更した以外は実施例 10 と同様にしてマイクロカプセルを得た。マイクロカプセルの質量回収率は 46%、マイクロカプセル中のペプチド A 含量は 21.3% であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、106.6% であった。

【0038】

比較例 2

実施例 10 中の W/O エマルションの組成を、ペプチド A の酢酸塩 1g/1ml 水溶液と、油相としてポリ (DL-乳酸) (PLA25000、Mw 25.9k、[COOH] = 98.2 μ mol/g、和光純薬工業製) 3.85g、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 0.15g、ジクロロメタン 5.5ml およびエタノール 0.35ml からなる溶液に変更した以外は実施例 10 と同様にしてマイクロカプセルを得た。マイクロカプセルの質量回収率は 49%、マイクロカプセル中のペプチド A 含量は 21.3% であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、106.5% であった。

【0039】

比較例 3

実施例 10 中の W/O エマルションの組成を、ペプチド A の酢酸塩 0.8g/0.8ml 水溶液と、油相として開環重合法で合成したポリ (DL-乳酸) (Mw 24.9k、[COOH] = 12.3 μ mol/g、ペーリンガー インゲルハイム製) 3.08g、3-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸 0.12g、ジクロロメタン 5.5ml およびエタノール 0.3ml からなる溶液

に変更した以外は実施例 10 と同様にしてマイクロカプセルを得た。マイクロカプセルの質量回収率は 29%、マイクロカプセル中へのペプチド A の封入率は 54.6% で、マイクロカプセル中のペプチド A 含量は 10.9% であった。そしてこの実現含量を仕込み含量で除して求めた封入効率は、54.6% であった。

【0040】

実験例 2

実施例 13 および比較例 2 で得られた各マイクロカプセル約 40mg を 0.3ml の分散媒 (0.15 mg のカルボキシメチルセルロース, 0.3mg のポリソルベート 80, 15mg のマンニトールを溶解した蒸留水) に分散して 8~10 週齢雄性 SD ラットの背部皮下に 22G 注射針で投与した。投与後ラットを屠殺して投与部位に残存するマイクロカプセルを取り出し、この中のペプチド A を定量した結果を表 6 に示す。

【表 6】

	1 日	2 週	4 週	8 週	12 週	16 週	24 週
実施例 13	92.9%	82.2%	69.6%	62.1%	47.9%	32.2%	11.6%
比較例 2	89.4%	34.3%	29.7%	20.8%			

実施例 13 および比較例 3 の実験結果より、本発明のポリエステルは生理活性物質を高含量で含有する徐放性製剤の基剤に秀でており、また実験例 2 の結果より、それを使用しての製剤は非常に長期に渡り封入薬物を安定的に放出することが明らかとなった。

【0041】

【発明の効果】

徐放性製剤への生理活性物質を高率に取込むことを可能にし、純度が高く、残存触媒が非常に少ないポリマーを効率よく生産する生体内分解性ポリマーの製造方法、および目的の生体内分解性ポリマーの分子量および遊離のカルボキシル基の調製を容易にする生体内分解性ポリマーの製造方法を提供することができる。

【書類名】要約書

【要約】

【課題】純度の高いポリマーを効率よく生産する生体内分解性ポリマーの製造方法。

【解決手段】カルボキシル基が保護されたヒドロキシモノカルボン酸誘導体またはカルボキシル基が保護されたヒドロキシジカルボン酸誘導体の存在下、環状エステル化合物を重合反応に付し、得られる ω 端に保護されたカルボキシル基を有するポリマーを脱保護反応に付すことを特徴とする ω 端に遊離のカルボキシル基を有する生体内分解性ポリマーの製造方法の提供。

【効果】本発明の製造方法を用いることにより、目的の生体内分解性ポリマーの分子量および遊離のカルボキシル基量の調節を容易にし、純度の高いポリマーを効率よく生産することができる。

【選択図】なし

【書類名】
【訂正書類】

職権訂正データ
特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000002934

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

【氏名又は名称】 武田薬品工業株式会社

【代理人】 申請人

【識別番号】 100073955

【住所又は居所】 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内

【氏名又は名称】 朝日奈 忠夫

【選任した代理人】

【識別番号】 100110456

【住所又は居所】 大阪府大阪市淀川区十三本町二丁目17番85号
武田薬品工業株式会社 大阪工場内

【氏名又は名称】 内山 務

出 願 人 履 歷 情 報

識別番号 [000002934]

1. 変更年月日 1992年 1月22日
[変更理由] 住所変更
住 所 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
氏 名 武田薬品工業株式会社

THIS PAGE BLANK (USPTO)